BEITRÄGE

ZUR

Kenntniss thierischer und pflanzlicher Eiweisskörper.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER MEDICINISCHEN DOCTORWÜRDE

DER

MEDICINISCHEN FACULTÄT ZU STRASSBURG i./E.

VORGELEGT VON

THEODOR WEYL

AUS BERLIN.



STRASSBURG.

VERLAG VON KARL J. TRÜBNER.

1877.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät der Universität Strassburg.

Referent,

Prof. Dr. HOPPE-SEYLER.

Beiträge zur Kenntniss thierischer und pflanzlicher Eiweisskörper.[1]

Von Th. Weyl.

I. Abhandlung.

A) Globuline.

Als Globuline hat Hoppe-Seyler[2] Eiweissstoffe bezeichnet, welche aus ihren neutralen Lösungen durch viel Wasser gefällt werden und in verdünnten Lösungen neutraler Alkalisalze vollständig löslich sind. Bei längerer Berührung mit Wasser werden sie allmälig in neutraler Na Cl-Lösung jeder Concentration unlöslich und gehen zunächst in Albuminate,[3] später wahrscheinlich sämmtlich in coagulirte Eiweissstoffe über. Säuren und Alkalien verwandeln sie je nach Concentration und Dauer der Einwirkung langsamer oder schneller in Körper, welche sich durch Reactionen von denen nicht unterscheiden lassen, die durch Einwirkung des Wassers aus ihnen entstehen.

Es zerfallen nun die bisher fast allein bekannten thierischen Globuline nach ihrem Verhalten zu Na Cl-Lösung in zwei Gruppen.

Das Vitellin (Hoppe-Seyler), bisher der einzige Vertreter der ersten Abtheilung, ist in Na Cl-Lösung jeder Concentration löslich.

---

(1) Vorläufige Mittheilung in Pflügers Arch. Bd. 12. S. 635 (1876). — Hoppe-Seyler, Phys. Chem. Bd. I, S. 76 (1877.)

(2) Handbuch der phys. Chem. 3. Aufl. S. 196. (1870.)

(3) Albuminat hier = Alkalialbuminat + Acidalbuminat = Protein Soyka. (Pflüger's Arch. Bd. XII, S. 377. [1876.]) Diese Bezeichnung schliesst sich Soyka's Auffassung an, mit welcher ich vollkommen einverstanden bin. Ich gebrauche für «Proteine» Albuminate, da ersterer Ausdruck zu Verwechselungen mit Mulder's «Protein» Veranlassung giebt.

In die zweite Abtheilung gehören Myosin (Kühne), fibrinogene Substanz und Serumglobulin (Paraglobulin vergl. § 4). Sie werden sämmtlich beim Eintragen von Na Cl-Stücken in ihre neutralen Lösungen gefällt und bis jetzt nur nach dem Orte ihres Vorkommens unterschieden.

Die von Denis(¹) und von Hoppe-Seyler(²) entdeckten pflanzlichen Globuline sind noch kaum Gegenstand physiologisch-chemischer Untersuchung gewesen.

Auf Veranlassung und unter Leitung des Herrn Prof. Hoppe-Seyler habe ich die Globuline, diese wichtigsten Bestandtheile des Protoplasma der Thiere und Pflanzen, einer erneuten Bearbeitung unterzogen. Ich sage meinem verehrten Lehrer meinen aufrichtigsten Dank für die Theilnahme und Unterstützung, welche meine Arbeiten bei ihm gefunden haben.

I. *Thierische Globuline.*

§ 1. Bestimmung der Coagulationstemperatur.

Bevor ich die Resultate meiner Untersuchungen mittheile, habe ich die Methode zu schildern, nach welcher ich die Coagulationstemperatur der Eiweisskörper bestimmte.

10 ccm. klar filtrirter Lösung des Körpers, dessen Coagulationstemperatur festgestellt werden sollte, befanden sich in einem Reagensgläschen, das ein durchbohrter Kork in einem mit circa 400 ccm. destillirten Wassers gefülltem Becherglase schwimmend erhielt. In die Lösung des Eiweisskörpers tauchte ein Thermometer so tief ein, dass die Kugel desselben von der Flüssigkeit vollkommen umschlossen wurde. Der Abstand zwischen dem Boden des Becherglases und des Reagensröhrchens betrug ungefähr 1 dm. Die Temperatur des Becherglases und seines Inhaltes wurde durch die Flamme des Bunsen'schen Brenners so langsam gesteigert, dass das Thermometer ca. 30 Minuten brauchte, um von 10° auf 90°

(¹) Mémoire sur le sang. Paris, 1859. S. 171.
(²) Med.-chem. Unters. S. 219. (1867.)

zu steigen. Eine gleichmässige Erwärmung der Eiweisslösung während des Versuches erzielte ich, indem ich das im Becherglase befindliche Wasser mit einem Glasstabe leise umrührte.

Als Coagulationstemperatur ist im folgenden immer derjenige Stand des Quecksilbers notirt, bei welchem die ersten deutlichen Flocken bei durchfallendem Lichte in der Lösung wahrgenommen wurden.

Die nach dieser Methode gewonnenen Resultate können natürlich auf absolute Genauigkeit keinen Anspruch machen. Wiederholte Versuche mit derselben Lösung zeigten aber, dass die Differenzen zwischen verschiedenen Ablesungen 1—2 Grade nicht überstiegen. Dies ist eine für meine Zwecke genügende Uebereinstimmung.

Für alle Bestimmungen der Coagulationstemperatur dienten ausschliesslich die neutralen Lösungen der möglichst gereinigten Globuline. Alle Lösungen enthielten ca. 10% Na Cl und möglichst viel Globulin.

§ 2. Vitellin (1)

Erschöpft man den gelben Dotter vom Hühnerei mit Aether, so bleibt eine weisse Masse, das Vitellin, zurück. Der Körper wird in möglichst wenig Na Cl- (Steinsalz) Lösung von 10% gelöst und durch wiederholtes Fällen (2) mit Wasser und Lösen in einigen Tropfen Na Cl-Lösung von 10% gereinigt.

Die neutrale, klar filtrirte Lösung, welche möglichst viel Vitellin und ca. 10% Na Cl enthielt, coagulirte bei 75°. Wird die Temperatur ganz allmälig gesteigert, so tritt schon bei ca. 70° eine allerdings nur partielle Gerinnung ein. Erfolgt dagegen die Wärmezufuhr sehr schnell, so findet erst bei ca. 80° Coagulation statt.

---

(1) Hoppe-Seyler, Med.-chem. Unters. S. 215 (1867) und Handbuch 4. Aufl. S. 235.

(2) Wegen der leichten Veränderlichkeit des Niederschlages darf man nicht warten, bis sich der Körper vollständig abgesetzt hat.

Weitere Versuche müssen zeigen, ob die Coagulationstemperatur des Vitellins und der anderen Globuline durch einen verschiedenen Gehalt ihrer Lösungen an Globulin und an Na Cl geändert wird.

Die Lösungen des Vitellins sowie der anderen Globulinsubstanzen in K HO zeigen bis 100° erhitzt keine Coagulation.

Die Darstellung der Globuline, welche am sichersten in der kalten Jahreszeit gelingt, muss möglichst schnell zu Ende geführt werden.

Längere Berührung mit Wasser macht die Körper allmälig in Na Cl unlöslich und führt sie, wie ihre Löslichkeit in Na_2CO_3 (1%) und HCl (0,8%) beweist, in ein Albuminat über.

Körper, welche in ihren Reactionen(1) mit dem Vitellin aus dem Eidotter übereinzustimmen scheinen, wurden von Hoppe-Seyler(2) im Chylus, von mir (3) im Fruchtwasser aus dem 7. Monat eines Falles von Hydramnion, von Hoppe-Seyler(4) und neuerdings von Laptschinsky(5) in der Crystalllinse des Rindes aufgefunden.

Löst man frisch dargestelltes Vitellin in einer Sodalösung von 1%, so wird es aus dieser Lösung durch Wasser allein schwer gefällt. Durch Einleiten von CO_2 in die mit einem grossen Ueberschuss von Wasser versetzte Lösung erhält man einen reichlichen Niederschlag von unverändertem Globulin, wenn der Körper nicht zu lange Zeit mit der Sodalösung und mit dem Wasser in Berührung war.

Versucht man das durch $H_2O + CO_2$ aus der Lösung in 1% Na_2CO_3 vor kurzer Zeit ausgefällte Vitellin in Sodalösung von 1% zu lösen, so zeigt sich ein merkwürdiges Phænomen. Die Flüssigkeit wird nämlich durch Zusatz einiger Tropfen der verdünnten Sodalösung für den Augenblick vollkommen klar. Nach einigen Minuten aber stellt sich von

(1) Die Coagulationtemperatur ist bisher nur für das Vitellin aus dem Ei und aus dem Fruchtwasser bestimmt worden.

(2) Nach mündlicher Mittheilung.

(3) Du Bois u. Reichert Arch. 1876, 546.

(4) Hoppe-Seyler: Handb. 3. Auflage, S. 201.

(5) Pflügers Archiv Bd. 13, S. 633 (1876).

neuem eine Trübung ein, die allmälig an Deutlichkeit zunimmt. Der Körper lässt sich auf diese Weise wahrscheinlich vollkommen ausfällen. In der Flüssigkeit, welche den ausgeschiedenen Körper enthält, tritt durch erneuten Zusatz von einigen Tropfen verdünnter Sodalösung erst Lösung, dann Fällung ein. Häufig gelingt es, diese Erscheinung drei- bis viermal hintereinander in derselben Flüssigkeit hervorzurufen. Wurde jedoch gleich anfangs zu dem in Wasser suspendirten Körper eine gewisse Menge der verdünnten oder einige Tropfen einer concentrirteren Sodalösung hinzugefügt, so blieb das im Wasser suspendirte Vitellin definitiv gelöst, um allmählig in ein Alkalialbuminat überzugehen.

Es scheint die eben beschriebene Reaction, für welche ich keine Erklärung kenne, allen in Na_2CO_3 (1 %) gelösten und durch $H_2O + CO_2$ gefällten Globulinen zuzukommen.(1)

Im Eidotter findet sich, wie seit Miescher und Hoppe-Seyler bekannt, ausser Vitellin auch Lecithin und Nuclein.

Einige Versuche scheinen zu zeigen, dass sich das Vitellin von diesen Körpern durch wiederholtes Fällen mit H_2O und Lösen in NaCl befreien lässt. Da Nuclein und Lecithin in neutraler NaCl-Lösung unlöslich(2) sind, so liegt die Annahme nahe, dass sie in der Vitellin-Lösung, welche man nach der Erschöpfung des Eigelbs mit Wasser und Auflösen des Rückstandes in Na Cl gewinnt, durch das Vitellin in Lösung erhalten werden (3).

§ 3. Myosin (Kühne).

Frisches, fein zerhacktes Pferdefleisch wurde so viel als möglich von Bindegewebe und Fett gereinigt und dann mit destillirtem Wasser so lange geknetet und gewaschen, bis die abgehobene Flüssigkeit die Streifen des Oxyhaemoglobins nicht mehr erkennen liess.

(1) Die pflanzlichen Globuline zeigen das gleiche Verhalten (§ 6.)

(2) Beide quellen in Na Cl, ohne sich zu lösen.

(3) Gegen diese Schlussfolgerung liesse sich einwenden, dass Lecithin durch Vitellin + Nuclein + Na Cl, Nuclein durch Vitellin + Lecithin + Na Cl gelöst würden. — Die von Plósz, (Pflügers Arch. Bd. 7, 374 [1875] in dem Na Cl-Extracte der Leber gefundene Nucleo-Albuminverbindung ist vielleicht eine Lösung von Nuclein in Albumin.

Die im Leinewandbeutel ausgepresste Masse behandelte ich ganz nach den Vorschriften von Kühne und von Hoppe-Seyler. (1) Nach mehrfachem Fällen mit Wasser und Auflösen in einigen Tropfen Na Cl-Lösung (10%) erhielt ich eine klare, neutrale Myosin-Lösung. Dieselbe coagulirte wie es Kühne (2) bereits angiebt, bei 55—60°.

Sättigt man eine neutrale Myosin-Lösung durch hineingehängte Steinsalzstückchen allmälig mit Na Cl und filtrirt den entstandenen Niederschlag ab, so löst sich derselbe fast vollkommen in Na Cl 10% auf, wenn die Operation bei niederer Temperatur möglichst schnell beendet wurde. Auch diese (neutrale) Myosinlösung, welche ca. 10% Na Cl und möglichst viel Myosin enthielt, coagulirte bei 55—60°.

Das durch H_2O gefällte Myosin wird auch bei möglichstem Luftabschluss durch blosse Berührung mit H_2O allmälig in verdünnter Steinsalzlösung unlöslich und geht in Albuminat über. Das Myosin ist durch Wasser allein schwerer fällbar als das Vitellin.

Im Eiweissharne habe ich bisher niemals Myosin nachweisen können.

§ 4. Serumglobulin (3).

Das Serumglobulin ist, wie ich zu zeigen gedenke, die einzige Globulinsubstanz des Blutserums.

Zu seiner Darstellung diente Rinderblutserum, wie es das hiesige Schlachthaus lieferte. Dasselbe war fast hæmoglobinfrei.

Beim Verdünnen des Serums mit 15 Vol. destillirten Wassers und Hinzufügen einiger Tropfen verdünnter Essigsäure bis zur neutralen Reaction bildete sich ein flockiger Niederschlag, welcher beim Durchleiten von CO_2 bedeutend

---

(1) Hoppe-Seyler, Handbuch 4. Auflage, S. 236.

(2) Physiolog. Chemie (1868), S. 275.

(3) Serumglobulin (d. h. die Globulinsubstanz des Serums) = Globulin d. Serums (Kühne) + fibrinoplastische Substanz (Paraglobulin) + Serumcaseins (Kühne, Eichwald) [Kalialbuminat d. Blutserums Kühne] + Serumcasein (Panum pro parte) = Globulin Heynsius (Pflügers Arch. II, 24 [1869]).

zunahm. Derselbe wurde in einigen Tropfen 10% Na Cl-Lösung gelöst und durch dreimaliges Fällen mit H_2O und Lösen in einigen Tropfen 10% Na Cl gereinigt. Die zuletzt-erhaltene klare, neutrale Lösung des Serumglobulins coagulirte bei 75°.

Der durch Sättigung einer neutralen Lösung von Serumglobulin mit Na Cl erhaltene Niederschlag coagulirt in einigen Tropfen Na Cl (10%) Lösung, gelöst gleichfalls bei 75° und verhält sich gegen alle Reagentien ganz wie der durch Fällung mit 15 Vol H_2O + CO_2 + Essigsäure dargestellte Körper.

Das Serumglobulin, welches mit dem Myosin der quergestreiften Muskeln in allen bisher bekannten Reactionen (1) übereinstimmte, unterscheidet sich also von demselben durch eine um 20° höhere Coagulationstemperatur.

Durch Eintragen von Na Cl-Stücken in eine möglichst gereinigte, neutrale Lösung von Serumglobulin in 10% Na Cl wird diese Globulinsubstanz nur unvollkommen gefällt. (2)

Ich hing in einer derartigen Lösung während der kalten Jahreszeit ein Stück Steinsalz auf und trug durch häufiges Umrühren dafür Sorge, dass sich das gelöste Na Cl in der Lösung gleichmässig verbreitete. Den reichlichen Niederschlag filtrirte ich nach drei Tagen ab. Die Lösung enthielt noch reichliche Mengen Serumglobulin. Das Steinsalzstück wurde von neuem in die Lösung hineingehängt. Dieselbe blieb auch noch nach weiteren 4 Tagen klar. Der gelöste Körper zeigte die Reactionen und die Coagulationstemperatur des Serumglobulins.

Trotz wiederholter Bemühungen ist es mir bisher nicht gelungen, neutrale Lösungen des Serumglobulins in 10% Na Cl zu erhalten, welche mehr als circa 1,8% des gelösten Körpers enthielten. (3) Diese Menge ist aber für eine sichere Bestimmung der specifischen Drehung des Serumglobulins kaum ausreichend.

---

(1) Es wäre zu untersuchen, ob nach Zusatz von Myosin ebenso wie nach Zusatz von fibrinoplastischer Substanz (A. Schmidt) zu einer gerinnungsfähigen Flüssigkeit die Menge des ausgeschiedenen Fibrins vermehrt wird.

(2) O. Hammarsten: Nove Acta reg. soc. Upsal. Ser. III, Vol. X, I.

(3) Bestimmt mit einem Polarisationsapparat nach Ventzke-Soleil·

Das durch 15 Vol. $H_2O + CO_2$ + Essigsäure gefällte Serumglobulin geht — wie alle anderen Globulinsubstanzen — bei Berührung mit H_2O allmälig in ein Albuminat über. (Heynsius.)

Serumglobulin, welches im Vacuum und über Schwefelsäure vollständig getrocknet, dann zu einem staubförmigen Pulver zerrieben war, lässt sich ohne durch Reactionen nachweisbare Veränderung bis auf 100° erhitzen, wenn man die Temperatur äusserst langsam (in 5—6 Stunden) bis zu diesem Punkte steigert und die bei der Erhitzung entweichenden Wasserdämpfe durch einen Strom trockener Luft sofort wegführt.(1) Die so behandelte Substanz löste sich nach 12 Stunden vollständig in Na Cl von 10%, lies sich durch einen Ueberschuss von H_2O, ebenso durch Eintragen von Na Cl aus dieser Lösung ausfällen und coagulirte bei 75°. Der getrocknete Körper war in H_2O völlig unlöslich, löste sich dagegen in Na_2CO_3 (1%) und in H Cl (0,8%).

Nach den Angaben von Kühne(2) und von Eichwald(3) werden durch 15 Vol. $H_2O + CO_2$ + Essigsäure aus dem Blutserum neben dem Paraglobulin (Kühne) [identisch mit der fibrinoplastischen Substanz Al. Schmidt's] auch noch Globulin (Kühne), d. h. ein fibrinoplastisch unwirksames Paraglobulin und endlich Serumcasein (Kühne nicht Panum) (4) ausgefällt.

Das Globulin Kühne's ist nun jedenfalls nichts als die durch das Fibrinferment nicht verunreinigte Globulinsubstanz des Blutserums.

Die fibrinoplastische Substanz (Paraglobulin) stimmt aber in ihrem Verhalten gegen H_2O und gegen Na Cl nach Kühnes Angaben vollständig mit seinem Globulin überein. Sie unterscheidet sich nur durch ihre Fähigkeit fibrinoplas-

(1) Vergl. A. Gautier: Compt. Rend. T. 80, 1360 (1875). Derselbe erhitzte getrocknetes und pulvrisirtes Blutplasma bis auf 110° und erhielt dasselbe eine Stunde lang bei dieser Temperatur. Es war nachher noch fast vollständig in H^2O (wegen der beigemischten Salze) löslich und coagulirte spontan.

(2) Physiolog. Chemie (1868) S. 175.

(3) Beiträge Heft I, (1873).

(4) Eichwald a. a. O., Inhalt I, 2 und S. 49.

tisch zu wirken. Auch dieser Unterschied ist fortgefallen, seitdem wir wissen, dass die fibrinoplastische Wirksamkeit nicht dem Paraglobulin als solchem, sondern einem Fermente zukommt, welches dem Paraglobulin anhaften kann.

Wir haben folglich keinen Grund das Paraglobulin (die fibrinoplastische Substanz) als einen Körper sui generis anzusehen.

Bleibt das Serumcasein (Kühne nicht Panum) übrig.

Heynsius hat nachgewiesen, dass die Löslichkeit von Paraglobulin und von Globulin in Sauerstoff, die Unlöslichkeit des Serumcaseins in demselben Gase nicht durch die Natur der mit dem Gase behandelten Körper, sondern vielmehr durch die ihnen beigemischten Salze bedingt wird.

Ebensowenig kann aber auch, wie derselbe Autor zeigte, die Nichtfällbarkeit des Serumcaseins durch CO_2 aus dem verdünnten Blutserum als unterscheidendes Merkmal gegen die fibrinoplastische Substanz (Paraglobulin) benutzt werden, da letztere aus ihren verdünnten Salzlösungen durch CO_2 gleichfalls unvollständig(1) gefällt wird.

Es bleibt noch übrig, das Verhalten von Serumcasein und Paraglobulin zu Na Cl-Lösungen zu discutiren.

Nach Kühne(2) löst sich sein Serumcasein sehr langsam in neutralen Alkalisalzen. Paraglobulin wird dagegen durch dieselben Lösungsmittel — Kühne macht keine Angaben ob langsam oder schnell — gelöst. (3)

Heynsius, welcher diese Thatsachen im ganzen und grossen bestätigt, giebt an, dass Alkalialbuminat (Lieberkühn, mit welchem Kühne sein Serumcasein vergleicht,) durch Eintragen von NaCl theilweise gefällt wird. (4)

Eichwald(5) findet das Serumcasein von Kühne in NaCl-Lösungen jeder Concentration vollkommen unlöslich, wenn es nur wirklich vollständig von Serum getrennt, also

(1) Dasselbe Verhalten zeigen auch die pflanzlichen Globuline (§ 6).
(2) a. a. O. S. 175.
(3) a. a. O. S. 168.
(4) Pflüger's Arch. Bd. II, (1869) und Bd. IX, S. 516 (1874).
(5) a. a. O. S. 65.

eine gewisse Zeit mit Wasser in Berührung gewesen ist. Gleich nach der Fällung ist es dagegen beim Zusatz von etwas Na Cl äusserst leicht([1]) wieder löslich.

Für meine Versuche stellte ich mir nach Kühnes Vorschriften Serumcasein aus dem Blutserum dar. Die Operation wurde bei Winterkälte vorgenommen und möglichst schnell beendet.

Der Körper, welchen ich erhielt, löste sich äusserst leicht in Na Cl 10% auf, war aus seiner Lösung durch viel H_2O, besser durch H_2 O + CO_2 + Essigsäure fällbar. Seine Lösung in 10% Na Cl coagulirte bei 75°. Durch Eintragen von Na Cl in die neutrale Lösung erhielt ich einen Niederschlag. Derselbe wurde bei niederer Temperatur abfiltrirt und in einigen Tropfen Na Cl-Lösung von 10% gelöst. Die Lösung coagulirte gleichfalls bei 75°.

Durch hineingehängte Na Cl-Stücken war auch nach drei Tagen nicht die ganze in Lösung befindliche Menge der Globulinsubstanz ausgefällt worden.

Es hat sich also ergeben, dass Serumcasein und Globulin (Kühne)([3]) in all ihren Reactionen übereinstimmen. Wir werden demnach beide Körper so lange für identisch erklären müssen, bis uns neue Reactionen oder die Resultate der Elementaranalyse eines besseren belehren.

Da nun Paraglobulin (fibrinoplastische Substanz) nur durch die Beimengung des Fibrin-Fermentes von Kühnes Globulin verschieden ist, da ferner zwischen Globulin (Kühne) und Serumcasein (Kühne) kein bisher nachweisbarer Unterschied besteht, so folgt, dass im Blutserum nur eine Globulinsubstanz vorhanden ist. Diese wird aus dem mit 15 Vol. H_2 O verdünnten Blutserum durch CO_2 und einige Tropfen verdünnter Essigsäure gefällt. Ich nenne sie Serumglobulin.([3])

([1]) a. a. O. S. 66.

([2]) Globulin Kühne nicht Heynsius. Das Globulin von Heynsius ist gleich Serumglobulin (Weyl).

([3]) Die Globulinsubstanz, welche sich häufig im reinen, durch Blut nicht verunreinigten Eiweissharne findet, ist, wie Senator (Virch.

II. *Pflanzliche Globuline.*

§ 5. Historisches.

Denis(1) fand zuerst, dass in den süssen Mandeln, in den Erbsen, Bohnen, Linsen und im Weizenmehl Eiweiss-Körper vorhanden seien, welche bei Behandlung der zerstossenen Samen mit Na Cl-Lösung von 10% in Lösung übergehen. Er bezeichnete alle diese Stoffe als «Glutine»(2) und meinte, dass in den Thieren und Pflanzen nur ein einziger Eiweisskörper vorhanden sei, welcher je nach der Art der Darstellung in «gluten, albumine végétale, caséine végétale, fibrine végétale», in «légumine» und in «amandine» überginge.

Hoppe-Seyler(3) fand dann in diesen Stoffen Analoga der thierischen Globuline.

1871 veröffentlichte Aug. Schmidt(4) seine unter Hoppes Leitung angefertigte Dissertation über Emulsin und Legumin.

Die umfangreichen Untersuchungen Ritthausen's und seiner Schüler über die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte und Oelsamen(5) beziehen sich meist «nicht auf reine unveränderte Eiweisstoffe, sondern auf mehr oder weniger zersetzte und ungenügend gereinigte Körper, welche

---

Arch. Bd. 60 [1874]) zuerst nachwies, gleichfalls Serumglobulin (Paraglobulin). Die Lösung des durch mehrfaches Fällen mit $H_2O + CO_2$ und Lösen in NaCl gereinigten Körpers coagulirt bei 75°. Myosin habe ich bisher im Eiweissharne niemals nachzuweisen vermocht. Vergl. auch J. Petri Versuche zur Chemie des Eiweissharns, Diss. inaug. Berlin, 1876. — Hieher gehört wohl auch der von Plósz (Pflügers Arch. Bd. VII, S. 377 [1873]) in der Leber gefundene Körper. Derselbe zeigte die Reactionen des Myosins, coagulirte aber bei 75°. — Auch im Eiterserum, im Na Cl (10%) — Extracte des pathalog. Käses, ferner in den wässerigen Lösungen faulen Fibrins finden sich Globulinsubstanzen, welche aus ihren neutralen NaCl-Lösungen (10%) durch Sättigung mit NaCl ausgefällt werden.

(1) Mémoire sur le sang, Paris 1859, S. 171 folgd.

(2) «parce qu'elle est la base du gluten» (a. a. O).

(3) Med. Chem. Unters. S. 219 (1867).

(4) Tübingen 1871. Dissert. inaug.

(5) Bonn 1872.

weder in ihrem Verhalten noch in ihrer Zusammensetzung etwas über diejenigen, aus denen sie gewonnen sind, ergeben.» (1)

§ 6 Allgemeine Reactionen pflanzlicher Globuline(2).

Die Lösungen pflanzlicher Globuline in Na Cl zeigen dieselben Reactionen wie die thierischen Globuline und wie die thierischen Eiweisskörper überhaupt.

Sie werden durch HNO_3, verdünnte Essigsäure, (3) durch Essigsäure + Ferocyankalium, durch Essigsäure + Na Cl u. s. w. gefällt. Sie geben Rothfärbung mit Millon's Reagenz, Violettfärbung beim Kochen mit KHO + $Cu\,SO_4$ etc. Ihre neutralen oder schwach sauren Lösungen coaguliren in der Hitze. Die Coagulate sind in verdünnten Säuren und Alkalien unlöslich. Die sehr verdünnten Lösungen der Körper in Na Cl werden durch CO_2 allein nur zum Theil gefällt.

Die durch $H_2\,O$ aus den NaCl-Lösungen gefällten Körper lösen sich anfangs in den Lösungen neutraler Alkalisalze vollständig auf. Später gehen sie durch Berührung mit H_2O in Albuminate über und lösen sich dann nur noch in verdünnter HCl und in Sodalösung von 1 %.

Die in $Na_2\,CO_3$ (1 %) gelösten und durch $H_2O + CO_2$ gefällten pflanzlichen Globuline zeigen, in Wasser suspendirt bei Zusatz von einigen Tropfen einer 1 % $Na_2\,CO_3$-Lösung, dasselbe Verhalten, wie es oben (§ 2) für das Vitellin aus dem Eigelb beschrieben wurde.

Säuren und Alkalien führen die Globuline je nach Concentration und Dauer der Einwirkung langsamer oder schneller in Alkalialbuminate oder in Acidalbuminate über.

---

(1) Hoppe-Seyler: Physiologische Chemie I, S. 76 (1877).

(2) Von der Existenz in $H^2\,O$ löslicher pflanzlicher Globuline habe ich mich bisher mit Sicherheit nicht überzeugen können.

(3) In einem Ueberschusse verdünnter Essigsäure lösen sie sich.

§ 7. Pflanzen-Vitellin.

Die pulvrisirten Samen von Hafer, Mais, Erbsen, süssen Mandeln, weissen Senf und Para-Nüssen (den Früchten der Bertholletia excelsa Humb. et Bompl.) geben an eine Lösung von Na Cl 10% eine Globulinsubstanz ab, welche durch wiederholtes Fällen mit H_2O und Lösen in Na Cl (10%) möglichst gereinigt bei 75° coagulirt.

Die für die Coagulationsversuche benutzte Lösung enthielt möglichst viel Globulinsubstanz und circa 10% Na Cl. Sie reagirte neutral.

Ich bezeichne diesen Körper, der in allen bekannten Reactionen mit dem Vitellin aus Eigelb übereinstimmt, als Pflanzen-Vitellin.

§ 8. Ueber crystallinisches Pflanzen-Vitellin.

a. Historisches.

Hartig fand 1856, dass im Klebermehl (Aleuron), welches er bereits 1855 in einer vorläufigen Mittheilung kurz besprochen hatte, Crystalle einer proteinartigen Substanz enthalten seien. (1) Er gab die Methode zur Isolirung dieser als Aleuron-Crystalle bezeichneten Gebilde an, der auch ich gefolgt bin. Von Holle's Arbeiten (2) haben die Kenntniss dieser Körper nicht wesentlich gefördert.

1859 erschien Radlkofers bekannte Schrift über die Crystalle der proteinartigen Körper, in welcher die pflanzlichen Proteincrystalle zum ersten Male mit den crystallinischen Dotterplättchen mancher Thiere verglichen wurden.

Dasselbe Jahr brachte auch O. Maschkes Untersuchungen über das Klebermehl von Bertholletia (3). Der Verfasser hielt die Proteincrystalle für eine Verbindung von Casein mit einer Säure.

---

(1) Bot. Zeitung, 1855, S. 881; 1856, S. 263. — Entwicklungsgeschichte des Pflanzenkeimes (1858) S. 108.

(2) Neues Jahrbuch f. Pharmacie von Walz und Winkler, Bd. 10, 27 (1858) und Bd. 11, 338 (1859).

(3) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 74, S. 436 (1858). — Bot. Ztg. 1859, S. 409

1862 publicirte Naegeli ([1]) seine Untersuchungen über die Crystalloide der Para-Nuss. Er sprach sich auf Grund microcrystallographischer und microchemischer Beobachtungen gegen die Crystall-Natur der Proteincrystalle aus und bezeichnete dieselben als Crystalloide.

Gegen Naegeli trat Hofmeister([2]) für die Crystall-Natur der Aleuron-Crystalle auf.

Die Arbeiten von Trécul,([3]) von Gris([4]) und von Sachs([5]) haben vorwiegend botanisches Interesse.

Hoppe-Seyler,([6]) der nur einige vor längerer Zeit dargestellte und schon etwas veränderte Crystalle untersuchte, fand sie in Wasser und Na Cl-Lösung unlöslich. Er konnte aus denselben eine geringe Menge einer P-haltigen Substanz darstellen, welche dem Lecithin aus Eidotter völlig glich.

1872 erschienen W. Pfeffers([7]) morphologisch wie physiologisch gleich wichtigen Untersuchungen über die Proteinkörner.

Endlich verdanken wir R. Sachse([8]) einige Analysen der Proteincrystalle von Bertholletia.

b. Darstellung([9]) der Vitellin-Crystalle aus der Para-Nuss.

Durch einen kräftigen Schlag auf eine Seitenwand werden die Nüsse ihres harten Gehäuses beraubt. Bei einiger Uebung bleibt die Frucht unbeschädigt erhalten, welche jetzt mit dem Messer von der ihr dicht anliegenden braunen Haut befreit und in feine Scheibchen zerschnitten wird. Durch

---

([1]) Sitzungsber. d. Münch. Acad. 1862. Bd. 2. 120.

([2]) Handb. d. phys. Bot. I, 395 Anmkg. (1867.)

([3]) Compt. rend. Bd. 47, 256 (1858). — Annales d. sciences nat. 1858.

([4]) Annales des sciences nat. 1864, S. 98.

([5]) Bot. Zeitg. 1862, 1863.

([6]) Med. chem. Unters., S. 219 (1867).

([7]) Pringsheim's Jahrb. f. wiss. Botanik, VIII, S. 429 (1872).

([8]) Sitzungsber. der naturf. Ges. zu Leipzig, 13. Juni 1876.

([9]) Im grossen und ganzen nach Hartig (Bot. Zeitg. 1856, S. 301). Ich zog mit Maschke (Bot. Zeitg. 1859, S. 409) die Anwendung des Aethers vor, weil er leichter zu beseitigen ist als fettes Oel.

Schütteln mit Aether, auf dessen neutrale[1] Reaction zu achten ist, fällt aus den Scheibchen das Klebermehl heraus. Dasselbe setzt sich schnell am Boden des Gefässes ab und wird mit dem Aether abgegossen, in welchem es durch leichte Bewegungen suspendirt wurde. Es fällt schnell zu Boden und kann dann durch Abgiessen des Aethers isolirt werden. Nachdem der Aether durch anhaltendes Schwenken des Gefässes möglichst schnell[2] verdunstet ist, wird das Klebermehl mehrmals mit destillirtem Wasser tüchtig geschüttelt. Hierdurch geht die zum grössten Theile gleichfalls aus Eiweissstoffen bestehende Hüllmasse der Crystalle wegen der in ihr enthaltenen Salze in Lösung über. Das rasch zu Boden fallende Pulver enthält neben Zelltrümmern und kugelig-drusigen Gebilden von grau-weisser Farbe (Hartigs Weisskernen, Pfeffers Globoiden) die Vitellin-Crystalle, welche uns im folgenden beschäftigen werden.

c. Chemisches Verhalten der Vitellin-Crystalle.

Dass diese Körper aus einem eiweissartigen Stoffe bestehen, hatte bereits Hartig (a. a. O.) erkannt.

Hoppe-Seyler[3] — ihm schliesst sich Kühne[4] an — sprach zuerst die Vermuthung aus, dass in ihnen ein vitellinartiger Körper enthalten sei.

Die Aleuroncrystalle Hartigs bestehen nun wirklich aus Vitellin.

Man bringe einige möglichst schnell und vor kurzer Zeit dargestellte Crystalle in einem Tropfen destillirten Wassers suspendirt unter das Microscop und betrachte sie bei circa 300-facher Vergrösserung. Jetzt lasse man einen Tropfen 10% Na Cl-Lösung behutsam zu den Crystallen treten. Nach kurzer Zeit haben sich die Crystalle vollständig[5] aufgelöst.

---

(1) Ein Säure- oder Alkali-Gehalt würde das Vitellin der Crystalle verändern.

(2) Längere Berührung des Aethers mit den Eiweisskörpern verändert letztere.

(3) A. a. O. S. 219.

(4) A. a. O. S. 552.

(5) Ueber die Hülle der Crystalle, welche ein secundäres Produkt ist, vergleiche S. 90.

Durch diesen einzigen Versuch, der oftmals mit stets gleichem Erfolge gelang, so lange die Crystalle frisch untersucht wurden, ist bewiesen, dass die Substanz der Crystalle aus einer Globulinsubstanz besteht — unter der Voraussetzung, dass wir die durch Na Cl gelöste Substanz nach den Beobachtungen früherer Autoren für eine eiweissartige ansprechen dürfen.

Bei der Unzuverlässigkeit der meisten microchemischen ([1]) Reactionen wird jedoch erst durch eine macrochemische Untersuchung die Zusammensetzung der Crystalle ermittelt werden können.

Die durch wiederholtes Schütteln und Schlämmen mit destillirtem Wasser möglichst gereinigten Crystalle löste ich, nachdem sich der Aether vollständig verflüchtigt hatte, in einigen Tropfen einer 10 % Na Cl-Lösung. Nach Filtration durch Faltenfilter erhielt ich eine klare Lösung, welche sich, mit einem grossen Ueberschuss von $H_2 O$ versetzt, nur unbedeutend trübte. Erst beim Durchleiten von CO_2 bildete sich ein weisser, flockiger Niederschlag, der sich allmälig am Boden des cylindrischen Gefässes absetzte. Ohne zu warten, bis sich der Niederschlag vollständig ([2]) zusammengesetzt

---

([1]) Die Crystalle lösen sich gleichfalls in Na_2CO_3 (1 %), H Cl (0;8 %) K O H (0,1 %) etc. Wochenlange Einwirkung von absolutem Alkohol macht sie in Na Cl-Lösung jeder Concentration unlöslich. Die Gelbfärbung mit Jod gelingt gut. (Die Globoide bleiben ungefärbt.) Die Farbenreactionen mit K O H + Cu SO_4, mit Millons Reagens, mit Zucker + H_2 SO_4, mit conctr. H Cl sind meist weniger deutlich. — Ueber gewisse electrische Phænomene, welche sich mit Hilfe der Crystalle hervorrufen lassen, vergl. Weyl in Du Bois und Reichert's Arch. 1876, S. 712. Bei der Einwirkung starker electrischer Ströme lösen sich die Crystalle (a. a. O. S. 714 Anmkg. 1). — Ich gestatte mir bei dieser Gelegenheit die Microscopirer, welche lebendes Protoplasma untersuchen, auf die Anwendung verdünnter Na Cl-Lösungen als Lösungsmittel aufmerksam zu machen. Die Kerne bleiben bei ihrer Einwirkung ungelöst zurück, die Globuline, der Hauptbestandtheil des Protoplasmas, geht in Lösung über. Durch Anwendung einer gesättigten Na Cl-Lösung kann man sogar, wie Rovida (vergl. Hoppe-Seyler, Phys. Chem. I, S. 74 u. 76) fand, Myosin- und Vitellin-ähnliche Körper unter dem Microscop von einander trennen.

([2]) Wegen der Veränderlichkeit des Niederschlages bei der Berührung mit Wasser darf mit der Isolation des gefällten Körpers nicht zu lange gewartet werden.

hatte, hob ich das über dem Bodensatze stehende Wasser mit dem Heber ab, löste die weisse Masse in ein paar Tropfen Na Cl (10%) und reinigte den Körper durch mehrmaliges Fällen mit H_2O und Lösen in Na Cl (10%).

Auch hierbei ist die Benutzung niederer Temperatur und die möglichste Beschleunigung aller Operationen durchaus nothwendig.

Die erhaltene Lösung zeigte die in §§ 6 und 7 aufgeführten Reactionen.

Es ist also bewiesen, dass die Crystalle der Para-Nuss einen Eiweisskörper, und zwar eine Globulinsubstanz enthalten.

Sättigt man die möglichst gereinigte, neutrale Lösung der Crystalle in Na Cl (10%) mit Na Cl, so entsteht keine Fällung. Sie coagulirt bei einem Gehalte von ca. 10% NaCl und möglichst viel Globulin bei 75°.

Demnach ist in den Crystallen Vitellin enthalten.

Es wird nun aber ferner zu untersuchen sein, ob das Vitellin wirklich der einzige Bestandtheil der Crystalle ist.

Nuclein habe ich bisher weder bei Untersuchung der möglichst gereinigten Crystalle, noch bei Verdauungsversuchen mit dem durch $H_2O + CO_2$ gefällten Vitellin nachzuweisen vermocht.

Ebenso wenig ist es mir bisher gelungen einen Lecithinähnlichen Körper im amorphen oder crystallinischen Vitellin aufzufinden.

Allerdings waren meine auf den Nachweis von Nuclein und Lecithin gerichteten Versuche vielleicht noch nicht zahlreich genug; vielleicht bedurfte es auch zum sicheren Nachweis dieser schwierig zu isolirenden Körper einer grösseren Menge Substanz, als mir für diese Versuche zu Gebote stand. Ich behalte mir daher weitere Mittheilungen über diese Punkte noch vor.

Ausserdem wird von dem Hüllhäutchen([1]) die Rede

([1]) Dasselbe darf mit der Hüllmembran des Proteinkornes nicht verwechselt werden, welche wahrscheinlich auf gleiche Weise wie das Hüllhäutchen der Crystalle entsteht.

sein müssen, welche nach den Angaben früherer Forscher (Maschke, Naegeli) [1] jedes Crystall umgiebt.

Dieses Hüllhäutchen ist nur vorhanden, wenn die Crystalle längere Zeit mit einer Flüssigkeit in Berührung waren, in welcher sie unlöslich sind. Diese Bedingungen sind aber bei ihrer Darstellung gegeben, da dieselbe auf der Anwendung von Aether und Wasser beruht.

Crystalle, welche bei niederer Temperatur und mit möglichster Beschleunigung aller Operationen in der oben geschilderten Weise dargestellt waren, hinterliessen keine Hüllmembran, als ich mit aller Vorsicht ein Tröpfchen 10% Na Cl-Lösung unter das Deckglas treten liess. [2] Wurden jedoch die Crystalle bei gewöhnlicher Temperatur einige Zeit lang unter Wasser aufbewahrt, so zeigte sich bei den von Tag zu Tag unter dem Microscope vorgenommenen Lösungsversuchen eine Hüllmembran immer deutlicher. Nach circa 14 Tagen waren die während dieser Zeit unter Wasser aufbewahrten Crystalle bei macro- und microchemischer Prüfung in Na Cl (10%) fast völlig unlöslich geworden. Erst wenn man die durch Wasser veränderten Crystalle im Mörser mit Na Cl-Lösung (10%) zerrieb, liess sich in der klar filtrirten Lösung eine geringe Menge Vitellin nachweisen. Wir werden nicht irren, wenn wir annehmen, dass die hierbei gelöste Substanz aus den inneren Schichten der Crystalle stammt, welche durch das Wasser noch nicht verändert worden waren.

Die in Na Cl (10%) unlöslichen Crystalle lösten sich in Na_2CO_3 (1%) auf, waren also, wie alle andere Globulinsubstanz durch die Berührung mit Wasser in Albuminate übergeführt worden.

Nach den Resultaten dieser Versuche muss ich die membrana propria (Hüllhäutchen, Hüllmembran) der Crystalle für ein secundäres

---

(1) a. a. O. Tafel II, Fig. 35—44.

(2) Diese membranlosen Crystalle waren aus erklärlichen Gründen viel stärker doppelbrechend als die membranführenden.

Produkt erklären, welches unter die Kategorie von Aschersons Haptogenmembran (Traubes Niederschlagsmembran) fällt. ([1])

Hauptsächlich die Existenz dieser Membran war es nun, welche Naegeli veranlasste die Crystalle der Para-Nuss als Crystalloide zu bezeichnen und ihre Crystallnatur in Abrede zu stellen. Da man bei geeigneter Behandlung membranlose Crystalle erhält, wird dieser Einwand Naegelis nicht mehr bestehen bleiben können.

Auch auf die übrigen Unterschiede, welche derselbe Forscher zwischen Crystallen und Crystalloiden aufstellt, werde ich nicht näher eingehen, da dieselben für membranlose Crystalle keine Geltung besitzen.

Ausserdem ist es aber, wie ich höre, in jüngster Zeit gelungen die Crystalle der Para-Nuss künstlich darzustellen.([2])

Hierdurch wäre die Crystallnatur dieser Gebilde bewiesen, an welcher wir übrigens auch nach den bis jetzt bekannten Daten kaum mehr zweifeln dürfen.

Obgleich mir nun die oben geschilderten Methoden die Möglichkeit gezeigt hatten membranlose Crystalle darzustellen, musste ich trotzdem darauf verzichten das Vitellin der Para-Nüsse in crystallinischem Zustande der Analyse zu unterwerfen. Ich habe mich nämlich überzeugt, dass es unmöglich ist nach Hartigs Methode die Crystalle frei von Weisskernen, Cellulosemembranen u. s. w. zu erhalten. Ebenso wenig

---

([1]) Aether bringt bei längerer Berührung gleichfalls eine solche Haptogenmembran hervor. Es wirkt aber viel langsamer als das Wasser.

Vergl. über derartige Membranbildungen: Naegeli u. Cramer (Pflanzenphysiolg. Unters. Heft I, S. 9 (1855). Naegeli hat, wie es scheint, zuerst die Bildung einer «Plasmamembran» bei Berührung von Protoplasma mit beobachtet. — Kühne; Protoplasma S. 36 (1864). — Pfeffer a. a. O S. 449 u. 450. — M. Schultze (Protopl. d. Rhizop. d. S. 21 [1863]) sah auf Zutritt von Wasser die Körnchenbewegung in den Pseudopodien einer Gromia langsamer werden. Ich bin geneigt dies Verhalten auf die Bildung einer solchen Haptogenmembran zurückzuführen.

([2]) Aus diesem Grunde habe ich selbst alle derartigen Versuche unterlassen. — Die Crystalle, welche Maschke (Bot. Zeitg. 1859, S. 441) aus der Lösung in warmem Wasser darstellte, können aus unverändertem Vitellin nicht bestanden haben.

durfte ich mich entschliessen die nach Maschkes Angaben künstlich dargestellten Crystalle für meine Analysen zu benutzen, da der nach dessen Angaben gewonnene Körper unverändertes Vitellin in keinem Falle sein konnte.

Unter diesen Verhältnissen blieb nichts übrig als das Vitellin der Crystalle in amorphem Zustande zu analysiren.

Das war bisher noch nicht geschehen.

Sachse (a. a. O.) isolirte die Crystalle in bekannter Weise, löste sie nach Maschkes Vorschrift in Wasser von 40—50°, filtrirte mit Hülfe des Wärmetrichters und erhielt das Filtrat auf dem Wasserbade längere Zeit bei der angegebenen Temperatur. Dabei schieden sich die Crystalle allmälig am Boden des Gefässes ab und wurden nach Beseitigung der Mutterlauge mit kaltem Wasser gewaschen.

Einen Körper, der nach Sachses Angaben mit demjenigen übereinstimmt, welchen er in eben geschilderter Weise aus den Nüssen isolirte, erhielt derselbe Autor, wenn er in die klarfiltrirte Lösung der Crystalle in Wasser von 40—50° CO_2 einleitete. Es entstand ein undeutlich crystallinischer Niederschlag, welcher für Sachses Elementaranalysen diente.

Diese von Sachse angewandte Methode ist aus zwei Gründen wenig empfehlenswerth.

Einmal wird das Vitellin der Crystalle durch Digestion mit Wasser von 40—50° verändert werden müssen.

Zweitens aber enthält der durch CO_2 entstandene Niederschlag nicht nur das veränderte Vitellin der Crystalle, sondern auch die gleichfalls in Wasser lösliche(1) Eiweisssubstanz, welche im Proteinkorne die Crystalle als Hüllsubstanz umgiebt. (2)

---

(1) Die Globulinsubstanz der Crystalle und der Hüllsubstanz ist natürlich wie jedes andere Globulin in H_2O unlöslich. Das Wasser vermittelt die Lösung der in beiden Substanzen enthaltenen Salze (wahrscheinlich KH_2PO_4). Die Salzlösung löst dann die Eiweissstoffe auf.

(2) Sachse hat die Identität der Eiweisskörper aus den Crystallen und aus der Hüllsubstanz behauptet, ohne dafür Beweise beizubringen. Ich habe mich — soweit dies durch einzelne Reactionen möglich ist — von deren naher Verwandtschaft überzeugt.

Die von mir angestellten Elementaranalysen beziehen sich nun jedenfalls auf das Vitellin der Crystalle, nicht auf den Eiweisskörper der Hüllsubstanz oder auf ein Gemisch beider Stoffe.

Ich gewann das reine Vitellin der Crystalle auf folgende Weise:

Die nach der auf Seite 86 beschriebenen Methode erhaltenen Crystalle zerrieb ich im Mörser mit einigen Tropfen einer abgekühlten Na Cl-Lösung von 10%. Nach einiger Zeit filtrirte ich von den Zellhäuten, Weisskernen etc. durch Faltenfilter bei niederer Temperatur ab. Die fast klare Lösung enthielt das Vitellin der Crystalle. Durch wiederholtes Fällen mit einem Ueberschusse von $H_2O + CO_2$ und Lösen des Niederschlags in einigen Tropfen Na Cl (10%) erhielt ich einen weissen Niederschlag, welcher sich gleich nach der Fällung in verdünnter Na Cl-Lösung fast vollständig auflöste. Ich wusch denselben wiederholt mit grossen Portionen abgekühlten Wassers, um das bei der Darstellung angewandte Na Cl zu beseitigen.

Der gefällte Körper setzte sich bei niederer Temperatur schnell am Boden des Gefässes ab und wurde durch Abheben des Wassers isolirt. Eine Probe desselben löste sich vollständig in Na Cl-Lösung. Darauf wurde das Vitellin möglichst schnell in Gefässen von grosser Oberfläche unter der Luftpumpe getrocknet. Es nahm während dieses Processes eine hornartige Consistenz und eine schwach graue Farbe an. Zu einem staubförmigen Pulver zerrieben zeigte es eine völlig weisse Farbe. Eine Probe dieses Pulvers zeigte alle Reactionen des unveränderten Pflanzen-Vitellins.

Zur Entfernung etwa vorhandenen Lecithins digerirte ich das Präparat mit grossen Mengen absoluten Alkohols (2 Liter auf 5 gr. Vitellin) mehrere Stunden lang unter häufigem Umrühren auf dem Wasserbade bei 75—80°. Der Alkohol-Extrakt wurde abgegossen. Er enthielt kaum wägbare Mengen Phosphorsäure. [1]

---

[1] Bestimmt durch Schmelzen mit $KHO + NaNO_3$ und nachherige Fällung durch molybdänsaures Ammoniak.

Nach Verdunstung des zurückgebliebenen Alkohols war das Präparat in Na Cl, $Na_2 CO_3$, H Cl (0,8%) unlöslich, also in coagulirtes Vitellin verwandelt.

Bei einigen mit diesem Präparate angestellten Verbrennungsanalysen war eine geringe Menge Kohle unverbrannt zurückgeblieben, welche durch die phosphorsauren Salze eingeschlossen wurde. Um diesen Uebelstand zu beseitigen, kochte ich das coagulirte Vitellin noch einmal längere Zeit mit destillirtem Wasser auf dem Wasserbade aus. Das Wasser-Extract enthielt Na Cl und phosphorsaures Kali (KH_2PO_4 ?), aber weder Eiweiss noch Peptone.

Das Wasserextrakt wurde abgezogen und das Präparat zuerst auf dem Wasserbade, später bei 110°—115° im Trockenschranke getrocknet.

Die Verbrennung der Substanz wurde im Platinschiffchen mit vorgelegtem Kupferoxyd, chromsaurem Blei und metallischem Kupfer zuerst im Luftstrome, später im Sauerstoffstrome vorgenommen.

Die zurückgebliebene Asche enthielt keine unverbrannte Kohle mehr. Den Stickstoff bestimmte ich nach Dumas Methode. Eine Stunde vor und eine Stunde nach der Verbrennung leitete ich CO_2 durch die Röhre. Zu diesem Zwecke befand sich im zugeschmolzenem Theile des Rohres eine Schicht Magnesie.

Den Schwefel ermittelte ich durch Schmelzen einer gewogenen Menge Substanz mit K HO + Na NO_3.

Die Wägung des Platinschiffchen nach der Verbrennung ergab durch die Verflüchtigung der Alkalien und durch das schwer zu vermeidende Aufblähen des Vitellins im Anfange der Verbrennung stets einen zu geringen Aschengehalt. Ich stellte daher den Aschengehalt durch eine besondere Bestimmung fest und verfuhr dabei folgendermassen: Eine gewogene Menge Substanz wurde in der Platinschale verkohlt und dann mit heissem Wasser erschöpft. Die löslichen Salze bestanden aus geringen Spuren Na Cl und KH_2PO_4, die unlöslichen aus phosphorsaurem Kalk und phosphorsaurer Magnesia. [1]

---

[1] Vergl. Maschke, a. a. O., S. 446.

Die löslichen Salze hätten sich wahrscheinlich durch länger fortgesetztes Waschen mit Wasser beseitigen lassen. Das Vorhandensein von Kalk- und Magnesia-Salzen in der Asche beweist durchaus noch nicht, dass sie mit dem Vitellin in bestimmter chemischer Verbindung stehen. Es ist bekannt, dass dieselben von Eiweissniederschlägen mechanisch mitgerissen werden.

Aus diesen Gründen wurden die Werthe der Vertrennungs-Analysen auf aschfreie und phosphorfreie Substanz([1]) berechnet.

Nach einigen Versuchen, die ich anstellte, scheint es, als wenn sich Nuclein und Lecithin von den Globulinen durch wiederholtes Lösen in NaCl und Fällen mit H_2O trennen lassen.

Sollte diese Beobachtung, deren Richtigkeit ich durch weitere Versuche zu sicheren hoffe, für alle Globulinsubstanzen zutreffen, so könnte die Anwendung des Alkohols zur Extraction des Lecithins unterbleiben. Man würde dann im Stande sein genuine, nicht coagulirte Globuline zu analysiren.

Elementar-Analysen.

Präparat A: Zweimal gefällt, nach Coagulation durch Alkohol mit Wasser nicht ausgekocht.

Asche = 5,36%.

I 0,0899 aschfr. Substanz = { 0,0062 H. / 0,04718 C.

II 0,1394 aschfr. Substanz = 0,0253 N.

III 0,4292 aschfr. Substanz = 0,07879 N.

Präparat B: Zweimal gefällt und nach Coagulation durch Alkohol mit Wasser ausgekocht.

Asche = 2,79%.

I 0,2234 aschfr. Substanz = { 0,01624 H. / 0,11735 C.

II 0,2783 aschfr. Substanz = 0,01955 H.

III 0,2431 aschfr. Substanz = { 0,0177 H. / 0,12739 C.

([1]) Ritthausen a. a. O. S. 203 ff berücksichtigt weder Lecithin noch Nuclein.

Präparat C: Dreimal gefällt und nach Coagulation durch Alkohol mit Wasser mehrmals ausgekocht.

Asche = 2,66%.

I 0,3096 aschfr. Substanz = 0,02231 H.

II 0,2307 aschfr. Substanz = { 0,0165 H. / 0,121 C.

III 0,4195 aschfr. Substanz = 0,0755 N.

IV 0,6327 aschfr. Substanz = 0,00308 S.

V 0,4977 aschfr. Substanz = 0,003094 S.

Die angegebenen Aschenwerthe zeigen

1) dass durch Auswaschen mit heissem Wasser der Aschengehalt von Präparat A und B, welche sonst in gleicher Weise hergestellt waren von 5,36% auf 2,79%, also um 2,57% fiel.

2) dass Präparat C, welches drei Mal gefällt war, einen um 0,13% geringeren Aschengehalt besass als Präparat B, das nur zweimal gefällt war.

Procentische Werthe.

	1	2	3	4	5	6	7	8	Mittel
C	52,48	—	52,52	—	52,42	—	52,3	—	**52,43**
H	6,89	—	7,26	7,0	7,28	7,2	7,1	—	**7,12**
N	18,1	18,3	—	—	—	—	—	17,9	**18,1**
S	—	—	—	—	—	—	0,48	0,62	**0,55**
O	—	—	—	—	—	—	—	—	**21,8**
Asche	5,36	5,36	2,79	2,79	2,79	2,66	2,66	2,66	
Präparat	A		B			C			

Zum Vergleiche lasse ich hier Sachses Analysen (a. a. O.) abdrucken.

	1	2	3	4	5	Mittel
C	51,07	50,75	50,98	50,77	51,14	**51,00**
H	7,30	7,33	7,20	—	7,16	**7,25**
N	18,00	18,00	18,05	18,20	—	**18,06**
O	21,48	21,79	21,49	—	—	**21,51**
P_2O_5	0,79	0,83	0,85	—	—	**0,82**
S	1,36	1,30	1,43	—	—	**1,36**
Asche	0,76	—	—	—	—	—

Die Analysen von Sachse und mir stimmen nur für H und N ungefähr überein. Besonders auffallend ist die grosse Differenz für S. Meine Analysen ergaben ferner einen nur fast 1,5% höheren C-Gehalt.

Sachses Analysen lassen sich, wie oben gezeigt wurde, nicht mit Sicherheit auf einen reinen Körper beziehen. Leider fehlen bei Sachse die Aschen-Werthe für phosphorsaure Magnesia und phosphorsauren Kalk. Aus diesem Grunde ist es unmöglich aus der Menge von $P_2 O_5$ die Menge des im Körper sicher noch vorhanden gewesenen Lecithins zu berechnen.

Das coagulirte Vitellin der Crystalle, welches ich analysirte, zeichnet sich vor allen anderen ([1]) Eiweisskörpern durch seinen hohen N-Gehalt aus. Es ist frei von Nuclein und Lecithin und muss desshalb als die reinste bisher bekannte Globulinsubstanz angesehen werden.

§ 9. Pflanzen-Myosin.

Ausser dem Pflanzen-Vitellin (§ 7) konnte ich in dem 10% Na Cl-Auszuge der pulvrisirten Samen von Weizen, Erbsen, Hafer, weissem Senf, süssen Mandeln noch eine zweite Globulin-Substanz nachweisen, welche in allen bekannten Reactionen mit dem Myosin der quergestreiften Muskeln übereinstimmt. Ich bezeichne sie aus diesem Grunde vorläufig als Pflanzen-Myosin.

Die meist sauer reagirenden Na Cl-Auszüge der oben bezeichneten Samen werden zum Nachweise dieses Körpers möglichst vollständig mit $Na_2 CO_3$ neutralisirt. ([1]) Eine etwa entstehende Fällung wird abfiltrirt.

Trägt man jetzt in die klare, meist etwas gelblich gefärbte Lösung Steinsalz-Stückchen bis zur Sättigung ein, so

---

(1) Hoppe-Seyler: Handbuch 4. Auflg. S. 223 (1875).

(2) Nur der in neutraler Lösung mit Na Cl erhaltene Niederschlag beweist die Anwesenheit von Myosin. In sauer oder alkalisch reagirenden Flüssigkeiten erhält man bekanntlich beim Sättigen mit NaCl-Stücken Fällungen von Alkalialbuminat resp. Acidalbuminat.

erhält man nach kurzer Zeit einen flockigen Niederschlag: das Myosin. Auf Zusatz einiger Tropfen Wasser verschwindet derselbe. Der Körper löst sich also in verdünnter Na Cl-Lösung auf.

Zur Darstellung eines reinen Präparates, wie es für die Coagulationsversuche benutzt wurde, fällt man den neutralisirten und durch Filtration geklärten Na Cl-Auszug der Samen — im Senf ist der Körper besonders reichlich vorhanden — mit einem grossen Ueberschuss von Wasser und leitet CO_2 ein. Nachdem sich der grösste Theil der gefällten Globulinsubstanz abgesetzt hat und das Wasser abgehoben ist, wird der gefällte Körper in wenigen Tropfen 10% Na Cl-Lösung gelöst. Die filtrirte klare Lösung sättigt man durch hineingehängte Na Cl-Stücke und filtrirt den nach kurzer Zeit entstehenden Niederschlag in der Kälte ab. Die klare, neutrale Lösung des so dargestellten Myosins coagulirt in einigen Tropfen einer 10% Na Cl-Lösung gelöst wie das Myosin der quergestreiften Muskeln bei 55—60°.

Ist in einem Na Cl-Auszuge neben Pflanzen-Myosin auch noch Pflanzen-Vitellin vorhanden, so erhält man zuerst bei 55—60° Coagulation des Myosins. Die filtrirte Lösung bleibt dann beim Erhitzen bis 60° klar, wenn vorher alles Myosin durch Coagulation ausgeschieden war, und giebt bei 70—75° noch einmal Gerinnung.

Daraus folgt, dass der Coagulationspunkt des Pflanzen-Myosins und des Pflanzen-Vitellins nicht geändert wird, wenn beide Körper in derselben Lösung enthalten sind.

Aug. Schmidt (a. a. O.), welcher die Unterscheidung von Pflanzen-Vitellin und Myosin noch nicht kannte, hat unter dem Namen Legumin ein Gemisch von beiden analysirt.

Die von Ritthausen und seinen Vorgängern (1) als Legumin, Pflanzen-Casein (§ 10) bezeichneten Körper sind Zersetzungsprodukte.

Es scheint daher am besten den Namen Legumin ganz aufgeben und dafür die «Globuline der Pflanzen» zu setzen.

(1) Die französischen Chemiker, ausserdem namentlich Liebig und seine Schüler.

Vielleicht dass die Analysen der pflanzlichen Globuline, welche nach den in dieser Arbeit beschriebenen Methoden darzustellen wären, die von mir vorläufig angewandten Bezeichnungen «Pflanzen-Vitellin» und «Pflanzen-Myosin» rechtfertigen.

§ 10. Es giebt kein genuines Pflanzen-Casein.

Hoppe-Seyler (1) bezeichnet als Casein einen in Wasser, Alkohol und neutralen Alkali-Salzen fast unlöslichen, (2) in kohlensaurem Alkali sowie in verdünnter H Cl leicht löslichen Eiweisskörper, welcher durch Kochen seiner Lösungen in Alkali nicht merkbar verändert wird.

Dass sich derartige Stoffe in den Pflanzen finden, ist bisher vielfach behauptet worden. Die von den Chemikern als Pflanzencasein bezeichneten Körper sind durch die bei ihrer Darstellung angewandten Säuren oder Alkalien jedenfalls zum Theil aus den Globulinsubstanzen der Säuren gebildet worden.

Zur Entscheidung dieser Frage extrahirte ich die gepulverten Samen der oben genannten Pflanzen mehrere Male mit 10% Na Cl-Lösung und beseitigte auf diese Weise den grössten Theil der in ihnen enthaltenen Globuline.

Nachdem der Rückstand zur Extraction des Na Cl mit Wasser gewaschen war, wurde er mit einer Lösung von Na_2CO_3 (1%) behandelt. Die erhaltene, klarfiltrirte Lösung von bräunlicher Farbe verdünnte ich mit einem Ueberschuss von Wasser und leitete CO_2 ein. Der entstandene Niederschlag löste sich in einigen Tropfen einer 10 % Na Cl-Lösung gleich nach der Fällung vollständig auf. Die Samen enthielten also wohl noch Globulin, aber keinen caseinartigen Körper.

---

(1) Hoppe-Seyler: Handbuch 4. Aufl., S. 229.

(2) C. Makris (Studien über die Eiweisskörper der Frauen- und Kuhmilch. Dissert. inaug. Strassburg, 1876) fand (S. 30) die Löslichkeit des Frauenkaseins in 100 ccm. Alkohol von 90° zu 0,004 gr.; die Löslichkeit des Kuhkaseins (S. 32) in 100 ccm destill. Wassers zu 0,123 gr., in 100 ccm. Alkohol von 90° zu 0,064 gr.

Ueber die Löslichkeit des Caseins in Na Cl-Lösung fehlen quantitative Bestimmungen.

Derartige Stoffe liessen sich mit den Samen der von mir untersuchten Pflanzen nur nachweisen, wenn die Operationen so langsam beendet wurden, dass die Soda-Lösung oder das Wasser auf die Globuline verändernd einwirken konnten, oder wenn die Säuren irgendwie bereits verändert, z. B. ranzig geworden waren. Die Para-Nüsse erleiden auf dem langen Transporte recht häufig eine derartige Veränderung. Die Fettsäuren, welche aus dem in ihnen enthaltenen Fette durch Gährung oder Fäulniss frei geworden sind, werden, da sie lange Zeit hierdurch einwirken können, jedenfalls im Stande sein, die Globulinsubstanzen in Albuminate (Casein) überzuführen.

§ 11. Veränderungen pflanzlicher Globuline bei Berührung mit Wasser.

Der Uebergang pflanzlicher Globuline in Albuminate bei Berührung mit Wasser ist schon oben erwähnt worden.

Wirkt das Wasser längere Zeit auf die gefällten Albuminate ein, welche aus den Globulinen durch Berührung mit Wasser entstanden waren, so werden dieselben auch in Na_2CO_3 (1 %) im HCl (0,8 %) unlöslich. Sie sind dann ihren Reactionen von coagulirten Eiweisskörpern nicht mehr verschieden.

Ich habe diesen Uebergang der Globuline in Albuminate und zuletzt in coagulirte Eiweisskörper nur an den Globulinen der Erbsen und des Hafers beobachtet. Ich zweifle jedoch nicht, dass sich derselbe auch bei den übrigen thierischen und pflanzlichen Globulinen wird nachweisen lassen.

Aus den mitgetheilten Beobachtungen ergibt sich der wichtige Schluss, dass Wasser, Säuren und Alkalien in gleicher Weise verändernd auf die Globulinsubstanzen einwirken.

§ 12. Resultate.

1) Vitellin aus Eigelb coagulirt in circa 10% NaCl-Lösung bei 75°.

2) Myosin aus Pferdefleisch coagulirt in derselben Lösung bei 55—60°. (Kühne).

3) Serumglobulin, die einzige Globulinsubstanz des Blutserums, ist aus seiner neutralen

Lösung in Na Cl durch Sättigung mit Na Cl nur unvollkommen fällbar. (Hammarsten). Der Körper coagulirt in 10% NaCl bei 75°.

4) Die pflanzlichen Globuline zeigen die allgemeinen Reactionen der thierischen Globuline und der thierischen Eiweisskörper überhaupt.

5) Das Pflanzen-Vitellin stimmt in allen Reactionen mit dem Vitellin aus Eigelb überein. Es coagulirt bei 75° in 10% Na Cl.

6) Die Proteinkörner der Para-Nuss enthalten membranlose Crystalle aus Vitellin, welches alle Reactionen der in Nr. 1 und Nr. 5 genannten Körper zeigt.

Die Membran der Crystalle bildet sich nur bei längerer Berührung mit Wasser. Sie ist eine Niederschlagsmembran.

Die Vitellin-Crystalle sind doppeltbrechend. Das Vitellin der Para-Nuss zeichnet sich durch seinen hohen N-Gehalt vor allen bisher bekannten Eiweisstoffen aus.

7) Das Pflanzen-Myosin, welches alle Reactionen des Myosins der quergestreiften Muskeln zeigt, coagulirt in 10% NaCl bei 55—60°.

8) Es gibt in frischen Pflanzensamen keine caseinartigen Körper (Albuminate). Alle bisher als Pflanzen-Casein bezeichneten Stoffe sind Kunstprodukte oder durch secundäre Processe in den Samen entstanden, welche mit der natürlichen Entwicklung der Pflanze nichts zu thun haben.

9) Bei Berührung mit Wasser, mit Säuren oder mit Alkalien gehen wahrscheinlich alle thierischen und pflanzlichen Globuline erst in Albuminate, später in coagulirte Eiweisstoffe über.

Strassburg, April 1877.

SEPARAT-ABDRUCK

aus der „Zeitschrift für physiologische Chemie.“ I. Band.

Strassburg, Buchdruckerei H. L. Kayser.